

淫羊藿黄酮类组分表观溶解度和油水分配系数的测定

谈唯¹, 丁冬梅^{1,2}, 张振海¹, 孙娥¹, 徐凤娟^{1,2}, 贾晓斌^{1,2*}

(1. 江苏省中医药研究院国家中医药管理局中药释药系统重点研究室, 南京 210028;
2. 江苏大学药学院, 江苏 镇江 212013)

[摘要] 目的: 测定淫羊藿黄酮类组分的表观溶解度和油水分配系数, 为该组分整体水溶性和脂溶性的表征提供参考。方法: 以淫羊藿黄酮类组分为模型药物, 采用 HPLC 测定朝藿定 A, B, C 及淫羊藿苷在不同缓冲液中的平衡溶解度和表观油水分配系数 (P_{app}), 流动相乙腈-水 (25:75), 检测波长 270 nm。结果: 朝藿定 A, B, C 和淫羊藿苷在不同 pH 缓冲液中的整体平衡溶解度顺序为朝藿定 B > 朝藿定 A > 朝藿定 C > 淫羊藿苷, P_{app} 总体变化趋势均为先变大后变小再变大, 油水分配系数 -1.437 ~ 3.147。结论: 淫羊藿黄酮类组分的水溶性及脂溶性较好, 在不同 pH 缓冲液中变化趋势相近, 朝藿定 B 属于微解, 朝藿定 A, C 和淫羊藿苷属于极微溶解。

[关键词] 淫羊藿; 黄酮类组分; 平衡溶解度; 油水分配系数; 朝藿定 A, B, C; 淫羊藿苷

[中图分类号] R283.6; R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)10-0005-03

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014100005

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.13422/j.cnki.syfjx.000081.html>

[网络出版时间] 2014-03-07 10:49

Determination of Apparent Solubility and Oil/water Partition Coefficient of Flavonoid Components from Epimedii Folium

TAN Wei¹, DING Dong-mei^{1,2}, ZHANG Zhen-hai¹, SUN E¹, XU Feng-juan^{1,2}, JIA Xiao-bin^{1,2*}

(1. Key Laboratory of New Drug Delivery System of Chinese Materia Medica, Jiangsu Provincial Academy of Chinese Medicine, Nanjing 210028, China;
2. School of Pharmacy, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China)

[Abstract] **Objective:** To determine apparent solubility and apparent oil/water partition coefficient of

[收稿日期] 20130823(012)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81274088)

[第一作者] 谈唯, 实习研究员, 从事中药药剂新剂型研究, Tel:025-52362115, E-mail:tanweicandy@163.com

[通讯作者] * 贾晓斌, 研究员, 博士, 从事中药药剂新剂型研究, Tel/Fax:025-85637809, E-mail:xiaobinjia_nj@126.com

- [5] Ahmad M, Razak A, Akowuah G A, et al. HPLC profile and antihyperglycemic effect of ethanol extracts of *Andrographis paniculata* in normal and streptozotocin-induced diabetic rats[J]. J Nat Med, 2007, 61(4):422.
- [6] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010:964.
- [7] 黄晓丹, 苏子仁, 赖小平, 等. 穿心莲片生产过程中脱水穿心莲内酯的含量变化[J]. 中国中药杂志, 2002, 27(12):911.
- [8] 聂凌云, 罗兴平. 穿心莲提取工艺的研究及热稳定性考察[J]. 解放军药学学报, 2005, 21(1):32.
- [9] 颜玉贞, 谢培山. 穿心莲质量控制的再评价[J]. 中药新药与临床药理, 1998, 9(4):204.
- [10] 杨涛, 盛欢欢, 李岩, 等. 星点设计-效应面法优化穿心莲提取工艺[J]. 中国药学杂志, 2011, 46(3):208.
- [11] 黄晓丹, 苏子仁, 赖小平, 等. 穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯和穿心莲 SFE-CO₂ 萃取物的热降解动力学[J]. 中药新药与临床药理, 2003, 14(1):53.
- [12] 高文娟, 谭雪梅, 戴荣华, 等. 指纹图谱法考察活络效灵丹加减方的不同提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(6):40.

[责任编辑 刘德文]

flavonoid components from Epimedii Folium, so as to lay foundation for overall solubility characterization of these components. **Method:** Taking flavonoid components from Epimedii Folium as model drug, HPLC was adopted to determine equilibrium solubilities and apparent oil/water partition coefficients (P_{app}) of epimedin A, B, C and icariin in different pH buffers by taking mobile phase of acetonitrile-water (25:75) and detection wavelength at 270 nm. **Result:** Overall equilibrium solubilities of flavonoid components from Epimedii Folium in different pH buffers were in order of epimedin B > epimedin A > epimedin C > icariin, oil/water partition coefficients were -1.437-3.147, overall trends of P_{app} were changed from small to large and then to small, to large at last. **Conclusion:** Water-soluble and fat-soluble of flavonoid components from Epimedii Folium were well with a similar overall trend, epimedin B belonged to slightly soluble, epimedin A, C and icariin belonged to very slightly soluble.

[**Key words**] Epimedii Folium; flavonoid components; equilibrium solubility; oil-water partition coefficient; epimedin A, B, C; icariin

淫羊藿功能补肾壮阳、强筋健骨、祛风除湿^[1],其主要活性成分淫羊藿总黄酮具有促进骨形成、抗病毒、改善痴呆大鼠学习记忆能力等作用,且无明显的长期毒性^[2]。淫羊藿黄酮类成分的黄酮母核上一般连有糖基,使其具有一定的亲水性。药物溶解性主要影响药物的释放速度,进而影响药物的生物利用度;表观油水分配系数是用于表示药物的亲脂性、透过生物膜的性能及与受体(包括酶)间疏水结合力的一种参数,亦可反应药物在吸收阶段的跨膜吸收能力和某些药理活性。

目前研究淫羊藿黄酮类成分的理化性质参数的报道较多^[3-4],而研究“淫羊藿黄酮类组分”的生物药剂学性质参数尚未见报道。本实验以淫羊藿黄酮类组分(包括朝藿定 A, B, C 和淫羊藿苷)为模型药物,通过测定该组分平衡溶解度和油水分配系数,为其整体表征及成药性提供参考。

1 材料

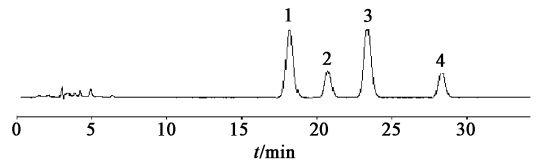
1100 系列高效液相色谱仪(美国安捷伦公司),BP-211D 型 1/10 万电子分析天平(德国赛多利斯公司),FE20 型 pH 计(梅特勒-托利多公司),TGL-16G 型高速离心机(上海安亭科学仪器厂),CHA-S 型数显气浴恒温振荡器(金坛市双捷实验仪器厂)。

朝藿定 A, B, C 对照品(实验室自制,经 HPLC 检测纯度均 >95%),淫羊藿苷对照品(西安小草植物科技有限公司,纯度 ≥98%,批号 xc20130628),甲醇为色谱纯,水为超纯水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 黄酮类组分的含量测定

2.1.1 色谱条件 Hanban ODS-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm),流动相乙腈-水(25:75),检测波长 270 nm,柱温 30 °C,流速 1.0 mL · min⁻¹,进样量 10 μL。专属性试验结果见图 1,说明对照品均可



1. 朝藿定 A; 2. 朝藿定 B; 3. 朝藿定 C; 4. 淫羊藿苷

图 1 淫羊藿黄酮类组分 HPLC

实现基线分离,测定均无干扰。

2.1.2 标准曲线的制备 精密称取干燥至恒重的对照品适量,加甲醇制成朝藿定 A, B, C 及淫羊藿苷质量浓度分别为 230, 472, 250, 279 mg · L⁻¹ 的储备液。精密量取储备液适量,加甲醇稀释制成系列对照品溶液,均在 4 °C 条件下避光储存,按 2.1.1 项下色谱条件测定,以峰面积为纵坐标,质量浓度为横坐标,得回归方程依次为 $Y = 30.4X + 5.071$ ($R^2 = 0.9996$), $Y = 12.19X + 2.796$ ($R^2 = 0.9992$), $Y = 24.7X + 4.048$ ($R^2 = 0.9998$), $Y = 21.7X + 0.924$ ($R^2 = 0.9999$),线性范围分别为 4.6 ~ 115, 5.9 ~ 236, 5.0 ~ 125, 5.4 ~ 135 mg · L⁻¹。

2.1.3 精密度试验 分别精密吸取高、中、低质量浓度的朝藿定 A, B, C 及淫羊藿苷对照品溶液,按 2.1.1 项下色谱条件重复进样 5 次,计算峰面积的 RSD 均 <2%,说明仪器精密度良好。

2.2 平衡溶解度的测定^[5-6] 按 2010 年版《中国药典》二部附录中方法^[1],配制 pH 分别为 2.0, 4.5, 5.0, 5.8, 6.5, 7.0, 7.4, 7.8 的磷酸盐缓冲液,取过量淫羊藿黄酮单体于 10 mL 具塞玻璃试管中,依次加入上述介质适量,充分混匀,放入恒温振荡器中振荡 24 h,温度保持(37 ± 1) °C,待溶解平衡且达饱和状态时取出。取滤液经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,弃去初滤液,取续滤液,按 2.1.1 项下色谱条件测定朝藿定 A, B, C 及淫羊藿苷含量,计算平衡溶解度,结果见图 2。表明随着 pH 的变化,4 种成分在各缓冲

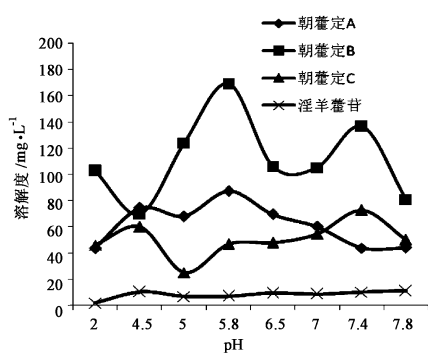


图2 淫羊藿黄酮类组分在不同 pH 缓冲液中的平衡溶解度

液中表现出不同的溶解性能,在 pH 5.8 缓冲液中各成分的平衡溶解度相对较高,整体平衡溶解度顺序为朝藿定 B > 朝藿定 A > 朝藿定 C > 淫羊藿苷,按 2010 年版《中国药典》对溶解性能进行划分,朝藿定 B 属于微解,朝藿定 A, C 和淫羊藿苷属于极微溶解。

2.3 油水分配系数的测定^[7-8] 取适量的淫羊藿黄酮类组分溶解于被水饱和的正辛醇中,制成相应的正辛醇溶液,精密吸取该溶液 2 mL 于 10 mL 西林瓶中,分别加入正辛醇饱和的不同 pH 的磷酸盐缓冲溶液 2 mL (pH 分别为 2.0, 5.8, 6.5, 6.8, 7.0, 7.4, 8.0),放入 37 °C 空气振荡器中振摇 24 h 直至平衡,取下层水相,经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,弃去初滤液,取续滤液,按 2.1.1 项下色谱条件测定不同 pH 缓冲液中朝藿定 A, B, C 及淫羊藿苷含量,按公式 $P_{app} = (C_0V_0 - CV)/CV$ 计算表观油水分配系数 (P_{app}), C_0 为指标成分在正辛醇中初始质量浓度, V_0 为水饱和的正辛醇体积 (2 mL), C 为分配平衡时在水相中测得指标成分的质量浓度, V 为水相体积 (2 mL), 见图 3。结果发现各成分在不同 pH 缓冲液中 P_{app} 总体变化趋势为先变大后变小再变大,各成分的油水分配系数 ($\log P_{app}$) -1.437 ~ 3.147。

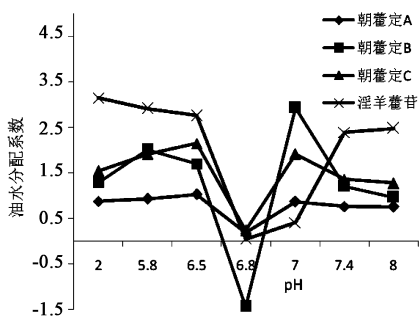


图3 淫羊藿黄酮类组分在不同 pH 的正辛醇-缓冲液中油水分配系数

3 讨论

通过研究淫羊藿黄酮类组分中朝藿定 A, B, C

及淫羊藿苷的表观溶解度和油水分配系数,从数值及趋势上直观分析,结果表明 4 种成分的水溶性和脂溶性具有很好的相似性,可划分为一个组分,无需再划分亚组分。朝藿定 A, B, C 的黄酮母核上均连有 3 个糖基,但由表观溶解度可知,朝藿定 B 属于微解,朝藿定 A, C 属于极微溶解,可能与连有的糖基类型有关,可为类似结构的化合物的研究提供参考。

不同 pH 缓冲液对淫羊藿黄酮类组分平衡溶解度及 P_{app} 的影响均具有显著性。以朝藿定 A 在不同 pH 缓冲液中 $\log P_{app}$ 为例, pH 2.0 时, $\log P_{app} = 0.87$, 随着 pH 的增大, $\log P_{app}$ 相应增大, pH 6.5 时达最大值 1.02, 当 pH 6.8 时, $\log P_{app}$ 达最小值 0.18, 当 pH 7 ~ 8 时, $\log P_{app}$ 变化不大, 约 0.75。药物须具有一定的水溶性及脂溶性才能透过生物膜而被吸收, P_{app} 在预测药物定量结构上具有重要意义, 通过对淫羊藿黄酮类组分的平衡溶解度及 P_{app} 的测定, 可为淫羊藿黄酮类组分新剂型的工艺提供基础数据, 亦可为其吸收代谢研究提供参考。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 306, 附录 111.
- [2] 张玉清, 王帅, 景娇, 等. 5 种中药总黄酮成分体外抗病毒作用观察[J]. 南京农业大学学报, 2012, 35 (4): 105.
- [3] 王霄阳, 谢人明, 孙文基. 朝藿定 C 平衡溶解度和表观油水分配系数的测定[J]. 药物分析杂志, 2010, 30 (8): 1432.
- [4] 李妍, 孙少平, 郑颖. 通过高效液相色谱保留时间测定淫羊藿次苷-II 与苷元的油水分配系数[J]. 中国药理学杂志, 2012, 47(2): 122.
- [5] 朱慧, 耿婷, 张丽, 等. 荆芥内酯平衡溶解度和油水分配系数的测定[J]. 中国中药杂志, 2010, 35 (23): 3144.
- [6] 刘冰, 吕佳. HPLC 测定苦参碱平衡溶解度和表观油水分配系数[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18 (20): 43.
- [7] 贾媛, 马兴苗, 恽菲, 等. 金丝桃苷油水分配系数及大鼠在体肠吸收动力学研究[J]. 中草药, 2012, 43 (5): 934.
- [8] 张蕾, 李婷婷, 陈孝健, 等. 氧化槐果碱表观油水分配系数测定[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19 (3): 130.

[责任编辑 刘德文]